

J. Clin. Chem. Clin. Biochem.
Vol. 15, 1977, pp. 339–343

Vereinfachte titrimetrische Halbmikrobestimmung der Lipase im Serum

Von W. Appel und H.-G. Scholz

Zentrallaboratorium und Medizinische Klinik (Leiter: Prof. Dr. med. P. M. Reisert) der St.-Vincentius-Krankenhäuser Karlsruhe

(Eingegangen am 14. April 1976/11. Februar 1977)

Zusammenfassung: Die quantitative, titrimetrische, kinetische Bestimmungsmethode für die Lipase in Serum, Duodenalsaft und Punktaten nach Rick (Rick, W. (1969), diese Z. 7, 530–539) wird als Halbmikromethode mit 0,20 ml Probenvolumen ohne N₂-Schutzgas für Routinezwecke adaptiert. Methodenbeschreibung und Qualitätssicherungsdaten werden mitgeteilt. Die Methode hat sich im Verlauf von mehr als 3 Jahren bei über 3000 Patienten bewährt.

Simplified titrimetric semimicrodetermination of lipase in serum

Summary: The quantitative, titrimetric and kinetic method for the determination of lipase in serum, duodenal juice and punctures by Rick (Rick, W. (1969), this journal 7, 530–539) has been adapted as a routine semimicro-method using 0.20 ml volume of specimen without N₂ protection. The description of the procedure and quality control data are reported. The method has been checked for more than 3 years and sera from more than 3000 patients have been investigated.

Einführung

„Längsprofile“ (Langzeitbeobachtungen) der Lipase über Monate hinweg sind bislang kaum bekannt geworden. Ihre Kenntnis beim einzelnen Patienten erlaubt eine Beurteilung der bekannten definierten Pankreas-erkrankungen, eine empfindliche, präzise und richtige Bestimmungsmethode im „Normal“- und „Übergangsbereich“ vorausgesetzt. Dies gilt gleichermaßen für die Erfassung atypischer Krankheitsbilder wie auch für die Kontrolle akut und chronisch rezidivierender Verlaufsformen sowie für die postoperative Überwachung bei Eingriffen im Oberbauch. Diese Beurteilung mittels eines Längsprofiles erscheint uns zur Klärung der Verlaufsform und zur Überprüfung der eingeschlagenen Therapie besonders im Hinblick auf das wenig spezifische und flüchtige Verhalten der α -Amylase-Aktivität erforderlich.

Als Voraussetzung betrachteten wir: Eine Vereinfachung der Bestimmungsmethode nach Rick (1) zur routinemäßigen Praktikabilität unter Erhalt der Spezifität; die umfassende methodologische Prüfung der Modifikation; eine hinreichende lange Erprobungszeit und eine kritische Korrelation mit der Klinik in einer genügend großen Zahl unausgewählter Einzelfälle. Entscheidend

wäre allerdings der Vergleich mit einer Referenzmethode, die jedoch noch nicht vorliegt.

Die methodischen Einzelheiten werden nachfolgend, klinische Ergebnisse an anderer Stelle beschrieben.

Methodenbeschreibung¹⁾

Prinzip der Methode und Ablauf der Reaktion: l. c. (1)

Geräte

Titrierausrüstung „Radiometer“ bestehend aus: Titrator TTT 2b, Registrierschreiber SBR 3, Autobürette ABU 12, Halbmikro-Titriereinheit TTA 31, Titriergefäße V 525 aus Plastik mit Magnetrührplättchen, Füllvolumen 0,5–4,0 ml, Thermostatiergefäß V 526, Halbmikroglaselektrode G 2222 C und Kalomelektrode K 4112, offenes Wasserbad mit Leitungswasserkühlung; Reaktionsgefäße (Titrierbecher) aus Glas oder Plastik.

Für Spezialuntersuchungen: Stickstoff-Gasflasche mit Druckmischer, Gaswaschflasche mit H₂SO₄, Natronkalkturm, Filter und Blasenähler (2 Blasen/s); Starmix o. ä., Glaspipetten mit ausgezogener Spitze, 0,200, 0,500 und 1,00 ml; Vollpipetten 2,000 ml; Mikropipetten 20 μ l.

¹⁾ Nach den Vorlagen der Standardisierungskommission der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie (März 1975) sowie DIN-Entwurf 58937 Teil 4 (Januar 1975).

Reagenzien

Gummi arabisch, ausgelesen, fein gepulvert, z. B. Merck, Art. 4282, oder entsprechende Qualität; Olivenöl DAB 7, (besser DAB 6), z. B. Olivenöl DAB 7/ÖAB 9/BP, Firma Henry Lamotte, Bremen; Glykocholsäure, Na-Salz; Bidestilliertes Wasser, frisch, CO₂-frei; NaOH-Lösung, 1,0, 0,1 und 0,01 mol/l; HCl-Lösung, 1,0 mol/l; Standard-Pufferlösung, z. B. Radiometer S 1510, pH 7,383 bei 25 °C.

Herstellung der Lösungen

Lösung 1: Gummi-arabicum-Lösung (Stammlösung²⁾).

50 g Gummi arabicum und 450 ml bidest. Wasser im Starmix (Stufe I) so lange mischen, bis die Substanz vollständig gelöst ist (etwa 15 min); Lösung in einen 500 ml Meßzylinder überführen, mit bidest. Wasser auf 500 ml auffüllen und gut mischen. Nach einigen Stunden die über dem Bodensatz befindliche, schwach getrübbte Lösung in eine Polyethylenflasche abgießen und bei + 4 °C aufbewahren.

Lösung 2: Olivenölemulsion, etwa 200 g/l.

400 ml Lösung 1 mit 100 ml Olivenöl mischen, etwa 5,0 ml 1 mol/l NaOH zugeben und nochmals 2 min homogenisieren.

In die Substratemulsion anschließend etwa 1,0–1,5 ml 1 mol/l HCl tropfenweise zugeben, 1 min homogenisieren; der pH-Wert soll etwa 8,2 betragen. Die Emulsion in etwa 25 ml-Portionen abfüllen und gut verschlossen aufbewahren.

Lösung 3: Na-Glykocholatlösung, 75 mmol/l.

366 mg Glykocholsäure, Na-Salz, in 10,0 ml bidest. Wasser lösen, Lösung in 10–15 Portionen abfüllen und bei + 4 °C aufbewahren.

Lösung 4: Bidest. Wasser, Kohlendioxid-frei.

Bidest. Wasser in einer Glasschliff-Kochflasche mehrere Minuten bei 100 °C halten, mit Natronkalkrohr verschließen und abkühlen lassen.

Lösung 5: (Titrant): NaOH-Lösung, 0,01 mol/l.

In einen 100 ml-Meßkolben bis zur Marke 0,1 mol/l NaOH-Lösung einfüllen, diese quantitativ in einen 1000 ml-Meßkolben überführen und bis zur Marke mit Lösung 4 auffüllen; gut mischen und in einer Vorratsflasche mit Natronkalkverschluß aufbewahren.

Haltbarkeit der Lösungen (4 °C)

Lösung 1 und 5: mindestens 2 Monate

Lösung 2: maximal 3 Tage

Lösung 3: maximal 3 Monate

Standard- und Kontrollproben

Interne Standards für Enzyme sind bislang noch nicht definiert. Als Kontrollen dienen im Handel befindliche Kontrollseren, vor allem Validate N und -A (Gödecke AG, Berlin-Freiburg), oder Enzatrol (Merz + Dade GmbH, München).

Vorbereitung des Patienten

Keine besonderen Maßnahmen erforderlich, im Akutfall ohnehin nicht möglich. Heparinpräparate, Opiate und Corticoide stellen mögliche Störfaktoren dar. Bei Durchführung von Provokations- oder Evokationstesten sind die hierbei erforderlichen Maßnahmen zu beachten.

Vorbereitung der Geräte

Die Vorwärmzeit der Geräte beträgt etwa 5 min, die des Wasserbades je nach Kapazität etwa 5–15 min; Justierungsmaßnahmen sind nicht erforderlich.

Vorbereitung der Reagenzien

Alle Lösungen müssen auf 25 °C vorgewärmt sein oder werden; die Titerkorrektur sollte wöchentlich erfolgen. Die Verwendung einer Checkliste (siehe Tab. 1) wird empfohlen.

Tab. 1. Checkliste.

1. Apparatenaufstellung (Verbindung zwischen Titrator und Bürette; Elektrodenkabel) einwandfrei?
2. Geräte und Wasserbad angewärmt?
3. Temperatur kontrolliert: 25,0 ± 0,1 °C? Thermometer geprüft?
4. Bei pH = 7,383 „Buffer adjustment“ etwa in Mittelstellung?
5. „Endpoint“ 8,20 eingestellt?
6. Apparateneinstellung mit „Stand-by“ kontrolliert? (Tab. 2)
7. Titer in Ordnung? (wöchentliche Kontrolle)
8. Tintenschreiber eingesetzt und funktionsfähig?
9. Kolben der Bürette mit NaOH gespült („empty burette“) und gefüllt?
10. Titrant-Zuführsystem luftblasenfrei?
11. Titrationseinheit sauber, trocken und dicht?
12. Planschliff des Dreivegeahnes der Kolbenbürette sauber und dicht?
13. Rührvorrichtung (Magnete, Treibriemen und Übersetzungsverhältnis) kontrolliert?
14. Elektroden fettfrei, einwandfrei ansprechend und richtig eingesetzt?
15. Vorwärmung von Proben und Kontrollproben ausreichend?

Entnahme des Untersuchungsgutes und der Untersuchungsprobe

Venenblut ohne Zusätze; für Duodenalsaft, Ascitespunkture u. a. gelten die Vorschriften bei der Durchführung von Provokationstesten (z. B. Kühlung).

Auffang- und Versandgefäße, Verwahrung, Transport des Untersuchungsgutes

Keine besonderen Vorschriften; empfohlen werden die auch für die üblichen klinisch-chemischen Untersuchungen geeigneten Probenröhrchen mit Trennmittel, z. B. Sarstedt 95/24 L. Zugabe von gerinnungsfördernden Mitteln (Kaolin) ist möglich, von gerinnungshemmenden Mitteln unnötig. Für Duodenalsaft u. a. gelten Sondervorschriften (z. B. Kühlung).

Aufbereitung des Untersuchungsgutes

Die Serumgewinnung erfolgt wie üblich; anderes Untersuchungsmaterial muß klar zentrifugiert werden. Temperaturen unter 35 °C und Licht besitzen keinen Einfluß. Duodenalsaft muß sofort gekühlt (0 °C) werden; die Messung hat innerhalb 3 h zu erfolgen (2).

Verwahrung der Proben

Die Proben können bei - 20 °C monatelang, bei 4 °C mindestens zwei Wochen, bei Raumtemperatur mindestens 17 h aufbewahrt werden; Luft und Licht besitzen keinen Einfluß; Zusatz von Konservierungsmitteln ist nicht erforderlich. Dies gilt nicht für Duodenalsaft und andere Körperflüssigkeiten, die wegen der Autolysegefahr möglichst frisch verarbeitet werden müssen.

Arbeitsweise

Checkliste (Tab. 1) beachten.

In einem Titrierbecher Rührmagnet mit Zacken nach oben einlegen und pipettieren:

Lösungen	Reagenzien-leerwert	Probe	Kontrollprobe
Lösung 2	20 µl	20 µl	20 µl
Lösung 3	2000 µl	2000 µl	2000 µl
Lösung 4	200 µl	—	—
Probe	—	200 µl	200 µl

sofort durch rasche Zugabe (200–400 µl/min) von Lösung 5 auf pH 8,2 titrieren und langsamer (1,25–50,0 µl/min) 2–5 min, mindestens bis zum Erreichen einer linearen Kinetik weitertitrieren. Patientendaten auf Registrierpapier vermerken.

²⁾ Die Firma Merck stellte uns freundlicherweise eine Stammlösung mit 160 g/l zur Verfügung, wofür an dieser Stelle ausdrücklich gedankt sei.

Bei Titrationsdauer über 10 min Ansatz mit 500 µl Probe wiederholen.

In der Zwischenzeit ein weiteres Reaktionsgefäß vorbereiten: Reinigen der Titrierbecher mit Wasser, Aceton und Benzin (Wattebausch); nach mehrminütigem Lufttrocknen beschicken.

Berechnung

Katalytische Konzentration

$$[U/l] = (T_x [\mu l/min] - T_o [\mu l/min]) F \cdot V$$

Für T_x = Natronlaugeverbrauch des Probeansatzes aus dem linearen Kurvenanstieg auf dem Registrierpapier, in µl/min;

T_o = ebenso, aus dem Reagenzienleerwertansatz;

F = Produkt aus Umrechnungsfaktor und Titer der Lösung 5, meist 47–53;

V = Verdünnungsfaktor der Probe, falls erforderlich.

Zuverlässigkeitskriterien

Präzision: Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 zusammengestellt. Der Variationskoeffizient (VK) von Tag zu Tag betrug bei Validate N an 260 Tagen 18,8–28,5%, bei Enzatrol an 291 Tagen 12,1–19,5%.

Richtigkeit: Linearität (Zeit, Menge): Die Reaktion verläuft 0,5–3 min nach dem Start über wenigstens 2 h nach der Kinetik einer Reaktion 0-ter Ordnung. Im Bereich von 5–800 U/l besteht lineare Beziehung zwischen Meßsignal und katalytischer Konzentration von Lipase; dies gilt entsprechend auch für 1:10-, 1:100- und 1:1000-Verdünnungen (Duodenalflüssigkeit). Bei zwei Patienten mit akuter Pankreatitis und Lipasewerten um 3000 U/l nahm die spezifische Aktivität beim Verdünnen zu. Die Ursache ist unbekannt.

Wiederfindungsversuch: nicht durchgeführt.

Spezifität: siehe l. c. (1). Auf die Problematik der Colipasen I und II (23) kann hier nicht eingegangen werden.

Tab. 2. Apparateeinstellung.

pH-Meter TTT 2

Puffer-Range:	0–14
Delay:	unendlich
Proportionalband:	0,05 pH
Endpoint:	8,60
Skala:	up
Temperatur:	25 °C

pH-Modul PHA 993

pH:	pH-Stat
Int. Chart Calibrat.:	0,1 pH

Autoburette ABU 12

Titrant:	0,1 n NaOH, faktorkorrigiert
Increments:	off
Speed:	40

Registrierschreiber SBR 3

Pen movement:	x 1
Chart feed:	1 cm/min

Meßbereich: die Nachweisgrenze (aus T_o in Serie) liegt – je nach Leerwert und Reaktionszeit – um 5 U/l; bei katalytischen Konzentrationen über 800 U/l sollen Verdünnungen mit NaCl-Lösungen, 9 g/l, angesetzt werden. Der Leerwert hängt bei intaktem System nur von der Qualität der Substratemulsion ab, vor allem von ihrem Alter und von der Reinheit von Gummi arabicum und Olivenöl.

Als praktische Nachweisgrenze verwenden wir 10 U/l.

Methodenbeeinflussung: Hämolyse stört entgegen l. c. (3) nicht. Folgende Pharmaka und körpereigene Substanzen zeigen keinen Einfluß (Endkonzentrationen im Serum nach 5 min Vorinkubation bei 25 °C): Bilirubin (100 mg/l), Glucose (8 g/l), Fructose (2 g/l), Acetazolamid (Diamox, 25 g/l), Gentamicin (Refobacin, 20 g/l),

Tab. 3. Qualitätssicherungsdaten: Angabe der Differenz zwischen deklariertem Wert m_o und gefundenem Mittelwert \bar{x} zu $[m_o - \bar{x}] : m_o \times 100$.

Statistische Kenngröße	Validate N Charge 2991103						Enzatrol, Charge ET-243				Patho-trol ²⁾	Pool ³⁾
	in Serie	1–6/74	6–12/74	1–6/75	6–11/75	3/76 ¹⁾	in Serie	1974	1–6/75	–3/76	1–6/76	1975
\bar{x} [U/l]	68,2	73,0	66,5	70,4	53,1	65,6	575	507	500	549,0	112	60,2
s [U/l]	3,24	19,0	15,7	13,1	23,6	18,7	55,0	61,3	86,0	106,9	33,1	11,9
VK [%]	4,75	26,0	24,5	18,8	44,4	28,5	9,56	12,1	17,2	19,5	30,0	19,8
n	20	59	51	106	64	44	25	40	105	146	12	91
Verteilung	–	norm	norm	norm	norm	–	–	norm	norm	norm	–	–
Differenz [%]	+ 6,56	+ 14,1	+ 9,0	+ 10,0	– 17,0	– 13,4	–	–	–	–	–	–

Präzision: Validate (n = 260): VK = 18,8–28,5%

Enzatrol (n = 291): VK = 12,1–19,5%

¹⁾ Charge 560064; bei 4 °C nach 2 Jahren nicht mehr stabil

²⁾ Charge PT 69 A, bei 4 °C nicht stabil gegen Ende der Untersuchungsperiode

³⁾ Gepooltes Serum von Patienten ohne Anhaltspunkt auf Pankreaserkrankungen, abgefüllt zu 1,5 ml-Proben und aufbewahrt bei – 20 °C. Jede Probe nur einmal verwendet.

Tab. 4. Normbereiche für die katalytische Konzentration von Lipase im Serum.

Kollektiv	n	\bar{x} [U/l]	s [U/l]	Bereich $-2s \leq \bar{x} \leq +2s$ [U/l]	Ver- teilung	Autor
Pankreas- gesunde	126	51	—	18–141	lognorm	(1)
Stat. Patienten ¹⁾	381	60	—	23–162	lognorm	(1)
Blut- spender ²⁾	68	78	29	20–136	—	(7)
Blut- spender ³⁾	24	115	40	35–195	—	(7)
Kinder, 0–2 Jahre ²⁾	20	57	24	9–105	—	(7)
Blutspender	100	64,5	—	23–183	—	(8)
Pankreas- gesunde	57	—	—	(bis 165)	—	(9)
Pankreas- gesunde ³⁾	184	—	—	(bis 182)	—	(10)
Stat. Pa- tienten ¹⁾	68	—	—	(ca. 150)	—	(11)
Stat. Pa- tienten ¹⁾	141	—	—	(bis 165)	—	(12)
Stat. Pa- tienten ¹⁾	350	—	—	(bis 200)	—	(13)
Stat. Pa- tienten ¹⁾	—	—	—	(bis 185)	—	(14)
Pankreas- gesunde	39	—	—	(bis 120)	lognorm	(15)
Pankreas- gesunde	—	—	—	(bis 150)	—	(16)
Patienten ⁴⁾	1458	59	(35)	5–130	lognorm	

¹⁾ Stationäre Patienten ohne Anhaltspunkte für eine Pankreas-
erkrankung

²⁾ 2-h-Wert, Endpunktstirration, 37 °C Reaktionstemperatur

³⁾ $\bar{x} + 3s$

⁴⁾ Stationäre und ambulante Patienten ohne Anhaltspunkte für
eine Pankreaserkrankung (Scholz und Appel, unveröffent-
licht)

Rolitetracyclin (Reverin, 4 g/l), Aprotinin (Trasylol, 5000 KIE/ml); Medikation mit Opiaten und Heparin kann zu einem Anstieg der Lipaseaktivität führen. Störfaktoren sind Eserin, Chinin und Aldehyd (3), Atoxyl (4) und gallensaure Salze (4) (vor allem l. c. (1)).

Biologische Merkmale

Normbereiche: siehe Tabelle 4.

Alters- und Geschlechtsabhängigkeit: Nicht ersichtlich.

Intraindividuelle, tagesrhythmische, jahreszeitliche oder klimatische Schwankungen: weder eigene noch Literaturangaben vorhanden.

Anderes biologisches Material: das Verfahren wurde problemlos angewandt bei Duodenalflüssigkeiten, Bauchpunktatsflüssigkeiten, Wundsekreten und Urin. In mehreren Fällen von Patienten mit schwerer akuter Pankreatitis wurden im Urin methodisch einwandfrei

abgesichert geringe katalytische Konzentrationen von Lipase, bis zu 1000 U/l, nachgewiesen. Zur Absicherung dienten Kontrollen mit Validate N, normalen und pathologischen Seren, Verlängerung der Reaktionszeit auf 2 h, Versuche mit erhitztem Urin (10 min/90 °C), vor allem durch Variation der Reaktionsgeschwindigkeit durch Temperaturänderungen im geschlossenen System (Wechsel der Thermostatenflüssigkeit) von 0 bis 50 °C. Auf die widersprüchliche Literatur soll hier nicht eingegangen werden (24). Wundsekrete enthielten bis zu 80 000 U/l.

Technische Merkmale

Praktikabilität: 1 Bestimmung erfordert etwa 20–30 min, eine Serie von 20 Bestimmungen etwa 1–1,5 h inklusive Kontrollen. Rasche Temperatureinstellung bei etwa 2,5 ml Endvolumen; einfache Handhabung, kein N₂-Schutzgas. Gerade diese Abweichung von der Originalmethode wurde sehr sorgfältig durch größere Vergleichsserien zu begründen versucht, stellt sie doch einen erheblichen Schritt zur Vereinfachung dar (Gasflaschen, Waschflaschen, Natronkalkturm, Blasenähler entfallen). Es wurden keine statistisch signifikanten Unterschiede der Ergebnisse der Versuchsserien mit und ohne Schutzgas gefunden. Wahrscheinlich ist der Totraum des Reaktionsgefäßes für eine meßbare CO₂-Einwirkung zu klein.

Mechanisierungsgrad: eine Teil- oder Vollmechanisierung ist z. Z. weder möglich noch vorgesehen.

Anderer Methoden: Zur gegenwärtigen Situation bezüglich Provokations-(Evokations)-Testen siehe l. c. (5), Chymotrypsin im Stuhl (6); weitere Literatur zur Lipase l. c. (17–22), im Urin l. c. (24).

Fehlerkatalog und Funktionshinweise

Bei der Herstellung des Olivenöls nach Zugabe der HCl stets *homogenisieren*; Schütteln oder Rühren allein genügt nicht; sonst zu hohe Leerwerte.

Gummi-arabicum-Lösung gut absitzen lassen, evt. kurz zentrifugieren; sonst Trübungen mit Verstopfungen der Elektroden. Emulsionsreste nach Gebrauch, größere Mengen spätestens nach einer Woche verwerfen; sonst zu hohe Leerwerte.

Titrationsskurve mit jeder neuen Charge Gummi-arabicum aufstellen, Bereich pH 4,5–9,0.

Seren mit sehr niedrigem pH-Wert bei metabolischen Acidosen zuvor auf etwa 8,2 einstellen; sonst Messung außerhalb des pH-Optimums. Vor jeder Messung Lösungen und Seren im Wasserbad auf 25 °C erwärmen, Temperaturkonstanz kontrollieren; sonst Nonlinearität. Das ganze System vor jeder Messung auf luftdichten Verschluss prüfen; sonst zu hohe Werte (CO₂). Dichtigkeit des Titrant-

zuführsystems prüfen, besonders am Drehschalter der Autobürette (Planschliffe!); sonst Vortäuschung hoher Aktivitäten durch Leervorschub der Kolbenbürette und Austropfen des Titranten am Planschliff. Keine Luftblasen im Titrantzuführsystem; sonst zu hohe Werte durch irrtümlichen weiteren Vorschub der Kolbenbürette. Rührmagnet mit den großen Zacken nach oben in das Titriergefäß einlegen; sonst ungleichmäßiges Rühren (Treppenkurven). Nach Auswechseln der Elektroden auf richtiges Einsetzen und richtige Stellung der Elektroden achten; sonst unregelmäßige Titrationskurven durch nicht gleichmäßige Elektrodenreaktionen.

Geometrie der Küvettenanordnung beachten: Küvette muß gut waagrecht sitzen, Elektroden und Zuleitung für Titrant dürfen sich und die Wände nicht berühren; Zuleitung darf nicht zu nahe an den Elektroden sein (Grenzschichtphänomene); sonst ungleichmäßige Titrationskurven.

Titrationssysteme, Rührer und Elektroden mit Wasser, Aceton und Benzin reinigen. Küvette, Rührer und Elektroden nach dem Reinigen gut trocknen lassen. Glas-Planschliff alle Wochen reinigen und neu fetten. Tintenschreiber alle vier Wochen reinigen.

Elektroden in Wasser eingetaucht verwahren. Kalomel-elektrode von Zeit zu Zeit mit feinstem Schmirgel-papier aufrauen, mit KCl-Lösung nachfüllen. Glas- und Kalomelelektrode alle zwei Wochen über Nacht in Pepsin-Salzsäurelösung (0,1 mol/l HCl). Neue Kalomel-elektroden: vor allem bei Auskristallisationen auf Luft-freiheit achten; sonst Titration durch äußeren Feld-einfluß unmöglich.

Glaselektrode: evt. Luftblasen nach oben schütteln; sonst treppenförmige Kurven.

Auf Kondenswasser im Titrant-Vorratsgefäß achten; sonst zu hohe Werte.

Literatur

1. Rick, W. (1969), diese Z. 7, 530–539.
2. Rick, W. (1971), Laboratoriumsdiagnostik der Verdauungs- und Resorptionsstörungen, in: Wissenschaftliche Berichte Merck, Band 6, S. 60–130, E. Merck, Darmstadt.
3. Schultis, K. (1974), in: Methodische Fortschritte im medizinischen Laboratorium, Band 2, „Malabsorption und Maldigestion“, (Englhardt, A. & Lommel, H. ed.), S. 87–114, Verlag Chemie, Weinheim.
4. Englhardt, H. (1974), in: Methodische Fortschritte im medizinischen Laboratorium, Band 2, „Malabsorption und Maldigestion“, (Englhardt, A. & Lommel, H. ed.), S. 115–122, Verlag Chemie, Weinheim.
5. Schmidt, H. & Witthöft, C. (1976), Leber Magen Darm 6, 227–234, insbes. S. 228.
6. Amman, R. (1976), Leber Magen Darm 6, 217–226, insbes. S. 223.
7. Weber, H. (1965), Dtsch. Med. Wochenschr. 90, 1170–1174.
8. Schultis, K., Wagner, E. & Voßköhler, E. (1973), Dtsch. Med. Wochenschr. 98, 364.
9. Voßköhler, E. (1971), Dissertation, Gießen.
10. Goebell, H. (1970), Internist 11, 117.
11. Goebell, H., Bode, Ch. & Lemberg, G. (1969), Dtsch. Med. Wochenschr. 94, 2086.
12. Wagner, E., Irfanoglu, E. M. & Schultis, K. (1971), Chirurg 42, 162.
13. Olbermann, M., Prellwitz, W. & Recke, S. (1973), Dtsch. Med. Wochenschr. 98, 8.
14. Stahlheber, H. & Forell, M. M. (1971), Mitt. Dtsch. Ges. Klin. Chem., Heft 1, S. 4.
15. Bornstein, W., Gebhardt, E. & Mann, W. (1976), Med. Klin. 71, 288.
16. Merck, E., Klinisches Labor (1974), S. 201, 12. Aufl. E. Merck, Darmstadt.
17. Bergmeyer, H. U. (1970), Methoden der enzymatischen Analyse, S. 781, 2. Aufl. Verlag Chemie, Weinheim.
18. Curtius, Ch. & Roth, M. (1974), Clinical Biochemistry, Band 2, S. 1253, Verlag W. de Gruyter, Berlin.
19. Ramiz, A., Nipper, H. C., Merchant, C. R. & Knoblock, E. C. (1974), diese Z. 12, 285.
20. Hillmann, G. & Weidemann, G. (1973), diese Z. 11, 257.
21. Berndt, W., Glashoff-Andresen, M., Kapaun, W. & Müller-Wieland, K. (1975), 86. Tagung, Nordwestdeutsche Ges. Inn. Med.
22. Bornschein, W., Gebhardt, E. & Mann, W. (1976), Med. Klinik, 71, 288–291.
23. Sémériva, M. & Desnuelle, P., in: Horizons in Biochemistry and Biophysics, (Quagliariello, E., Palmieri, F. & Singer, Th. P. ed.), Vol. 2, S. 32–59, Addison-Wesley Publ. Comp., London, Amsterdam u. a. (1976).
24. Gülzow, M., Leithäuser, W. & Trettin, H.-J. (1967), Dtsch. Z. Verd. Stoffwechselkrankh. 27, 109–115.

Priv.-Doz. Dr. W. Appel
Südendstraße 32
D-7500 Karlsruhe

